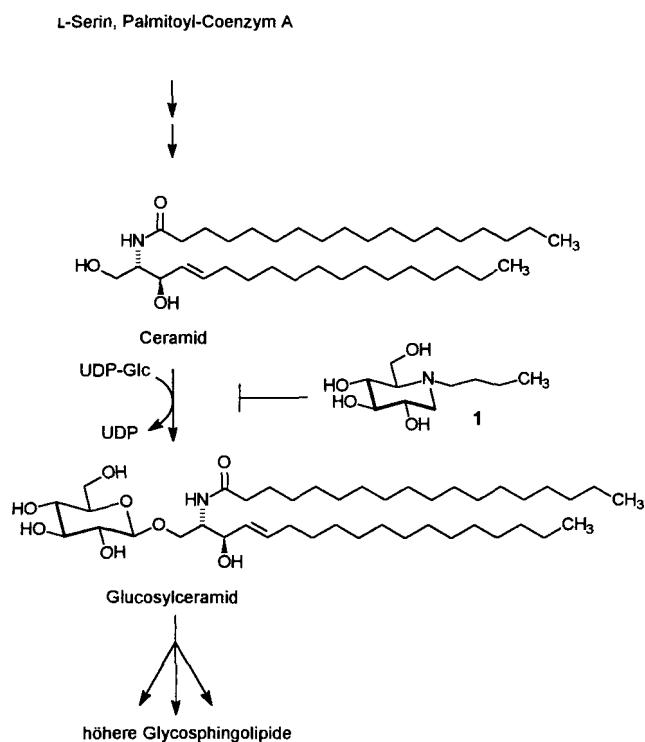


Ein chemisches Konzept zur Behandlung der Tay-Sachs'schen Erkrankung

Thomas Kolter*

Die Tay-Sachs'sche Erkrankung gehört zu einer Gruppe menschlicher Erbkrankheiten, bei denen aufgrund einer Abbaustörung Lipide in den Lysosomen der Zellen akkumulieren. Mit einer Ausnahme ist eine kausale Behandlung dieser oft tödlich verlaufenden Sphingolipid-Speicherkrankheiten nicht möglich. Kürzlich ist es mit Hilfe eines niedermolekularen Inhibitors der Glycosphingolipid-Biosynthese gelungen, im Tiermodell der Tay-Sachs'schen Erkrankung die Speicherung der Lipide im Zentralnervensystem zu verzögern.^[1] Bei dem Wirkstoff handelt es sich um *N*-Butyldesoxynojirimycin **1** (Schema 1).



Schema 1. Ausschnitt aus der Biosynthese der Sphingolipide und Angriffspunkt der Verbindung **1**.

Sphingolipidosen

Sphingolipid-Speicherkrankheiten (Schema 2) sind relativ seltene Erbkrankheiten, bei denen mindestens ein Schritt des Sphingolipid-Abbaus defekt ist.^[2, 3] Sphingolipide sind Bestandteile von Zellmembranen, die auf der Oberfläche eukaryontischer Zellen noch nicht vollständig aufgeklärte Funktionen erfüllen.^[4] Sie bestehen aus einem Membrananker aus Ceramid (*N*-Acyl-*d*-erythro-sphingosin) und einer hydrophilen Kopfgruppe, bei der es sich um ein Saccharid oder um Phospho-

rycholin handelt. Ihre Biosynthese^[5] erfolgt ausgehend von der Aminosäure L-Serin und Palmitoyl-Coenzym A an intrazellulären Membranen. Von dort werden sie zur Plasmamembran transportiert, um nach einer gewissen Zeit endocytiert und im Verdauungsapparat der Zelle, den Lysosomen, abgebaut zu werden.^[6] Im Gegensatz beispielsweise zu den Phospholipiden werden die Sphingolipide beim Menschen streng sequentiell abgebaut. Von fast jedem dieser Abbauschritte ist ein genetischer Defekt bekannt, der sich beim Menschen als Erbkrankheit äußert. Als Folge der Abbaustörung häufen sich nicht mehr abbaubare Sphingolipide in den Lysosomen an und führen zum Untergang besonders betroffener Zellen. Da der Abbau an Membranoberflächen stattfindet, werden neben den hydrolytischen Enzymen auch Aktivatorproteine benötigt, die die Wechselwirkung zwischen den membranständigen Lipidsubstraten und den wasserlöslichen Hydrolasen vermitteln. Die Krankheitsbilder von Sphingolipidosen sind sehr heterogen; oft handelt es sich um Geisteskrankheiten, die im frühen Kindesalter ausbrechen und innerhalb weniger Jahre zum Tod der Patienten führen. Es sind aber auch milde Krankheitsformen bekannt, die ohne neurologische Beteiligung verlaufen und den Patienten ein Leben bis ins hohe Alter ermöglichen.

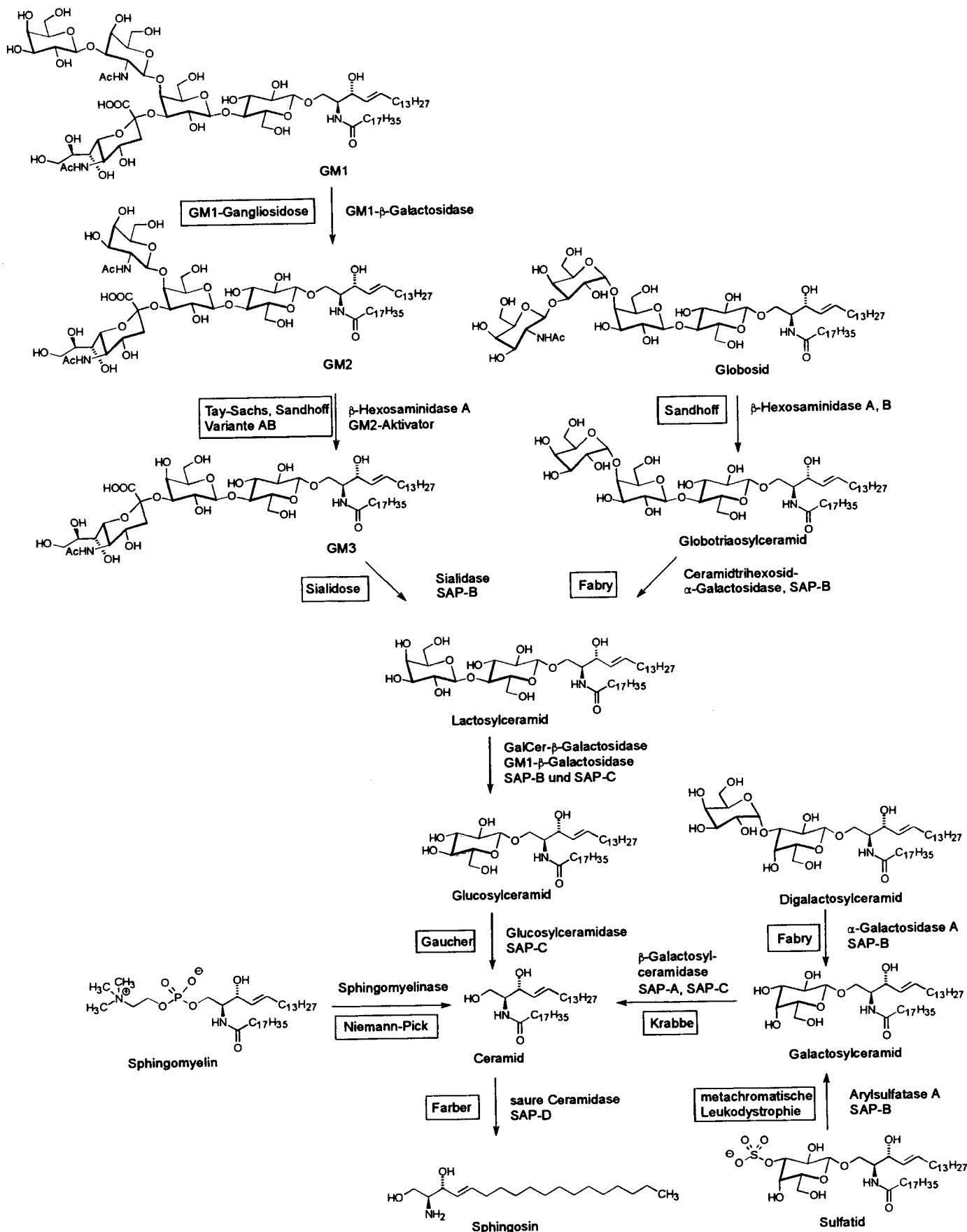
Die Pathogenese der einzelnen Erkrankungen hängt wesentlich von zwei Faktoren ab:^[1] Zum einen werden Sphingolipide zelltypspezifisch exprimiert. Sialinsäurehaltige Glycosphingolipide beispielsweise, die Ganglioside, werden überwiegend in Nervenzellen gefunden, so daß ihre Speicherung zu einem Untergang dieser Zellen führt und vorwiegend die Funktion des Zentralnervensystems beeinträchtigt. Zum anderen hängen Verlaufsform und Schwere der Erkrankung von der enzymatischen Restaktivität ab, die das mutierte Genprodukt im Lysosom zeigt.^[7] Ein kompletter Verlust führt im allgemeinen zu einem frühen Ausbruch und einem schweren Verlauf der Erkrankung. Viele Mutationen führen jedoch nur zu einem teilweisen Verlust der enzymatischen Aktivität. Eine enzymatische Restaktivität von wenigen Prozent kann ausreichen, um den Ausbruch der Krankheit zu verzögern und einen milden Krankheitsverlauf zu bewirken.^[7]

Die Tay-Sachs'sche Erkrankung

Beim Menschen ist die Tay-Sachs'sche Erkrankung durch das Auftreten neurologischer Symptome im frühen Kindesalter charakterisiert, durch ein rasches Fortschreiten der Krankheit und das Eintreten des Todes vor dem vierten Lebensjahr.^[8] Die frühesten Symptome setzen im Alter von 3 bis 5 Monaten ein. Es treten motorische Schwächen auf; plötzliche Geräusche rufen ungewöhnlich heftige Schreckreaktionen hervor, da inhibitorische Neurone schneller absterben als erregende. Im Alter von sechs bis zehn Monaten lassen Aufmerksamkeit und Sehvermögen nach, die neurologischen Störungen schreiten fort, bis der Tod eintritt. Bei der Tay-Sachs'schen Erkrankung ist die α -

[*] Dr. T. Kolter

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn
Telefax: Int. + 228/73 7778
E-mail: Kolter@snchemie1.chemie.uni-bonn.de



Schema 2. Der Abbau ausgewählter Sphingolipide in den Lysosomen der Zelle [2]. Die Bezeichnungen einzelner Erbkrankheiten (eingerahmt) sind angegeben. Die einzelnen Verbindungen zeigen zum Teil erhebliche Heterogenität im Lipidteil, die nicht gezeigt ist. Variante AB = Variante AB der GM2-Gangliosidose (Fehlen des GM2-Aktivatorproteins); SAP: Sphingolipid-Aktivatorprotein.

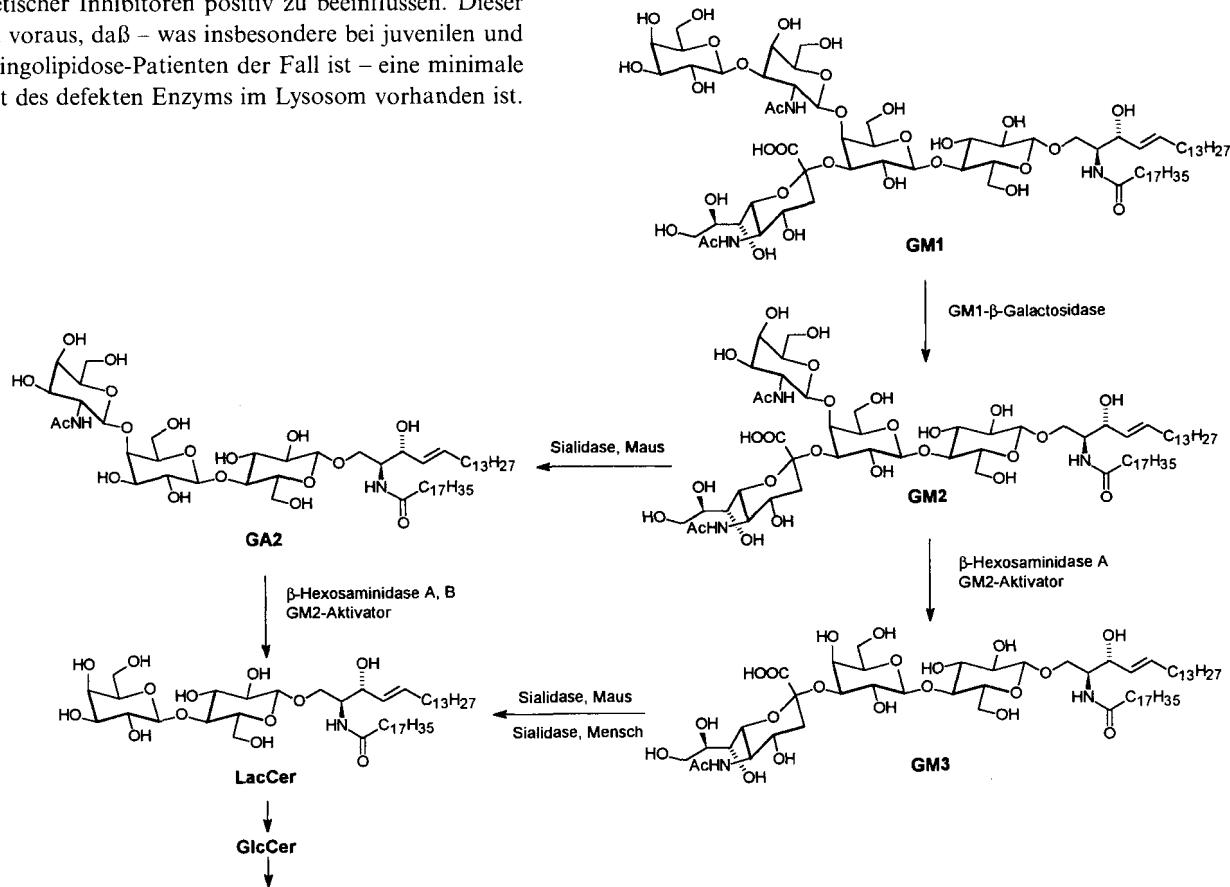
Untereinheit des Enzyms β -Hexosaminidase A defekt. Die β -Hexosaminidase A ist ein Heterodimer aus einer α - und einer β -Untereinheit und spaltet terminale β -glycosidisch verknüpfte *N*-Acetylglucosamin- und *N*-Acetylgalactosaminreste aus ungeladenen und negativ geladenen Substraten ab. Das natürliche Substrat der β -Hexosaminidase A ist das unter physiologischen Bedingungen negativ geladene Gangliosid GM2. Für den GM2-Abbau in vivo ist zusätzlich die Gegenwart eines Cofaktors, des GM2-Aktivatorproteins, erforderlich. Ungeladene Substrate wie das Glycolipid GA2 können auch von der β -Hexosaminidase B mit der Untereinheitenstruktur β_2 gespalten werden. Mutationen in der β -Kette der Hexosaminidasen können zum Ausfall beider Isoenzyme, der Hexosaminidasen A und B führen, was beim Menschen bei der Sandhoff'schen Erkrankung der Fall ist.

Das Konzept

Dem Ansatz der Autoren liegt das Konzept zugrunde, daß Schwere und Verlaufsform dieser Erkrankungen durch das Verhältnis von verbleibender lysosomaler Enzymaktivität und Substratfluß in das Lysosom bestimmt werden.^[17] Solange die Biosynthese der Substrate weiterläuft, für deren Abbau das defekte System verantwortlich ist, schreitet die pathologische Anhäufung der Substrate im Lysosom fort. Der Substrateneinstrom in die Lysosomen sollte durch Hemmung der Sphingolipidbiosynthese reduziert werden können. Damit sollte es möglich sein, sowohl Schwere als auch Verlaufsform dieser Erkrankungen mit Hilfe synthetischer Inhibitoren positiv zu beeinflussen. Dieser Ansatz setzt voraus, daß – was insbesondere bei juvenilen und adulten Sphingolipidose-Patienten der Fall ist – eine minimale Restaktivität des defekten Enzyms im Lysosom vorhanden ist.

Das Tiermodell

Durch gezielte Unterbrechung der Gene der α -Kette der β -Hexosaminidase A in embryonalen Stammzellen der Maus wurde ein Tiermodell der Tay-Sachs'schen Erkrankung erhalten.^[19, 10] Auch das Tiermodell der Sandhoff'schen Erkrankung, bei dem die β -Kette der Hexosaminidasen A und B ausgeschaltet ist, wurde beschrieben.^[11] Während sich die oben erwähnten Formen der GM2-Gangliosidose beim Menschen phänotypisch nur geringfügig unterscheiden, zeigen die Tiermodelle drastische Unterschiede in Verlauf und Schwere der Erkrankung. Mäuse mit defekter β -Hexosaminidase A, die Tay-Sachs-Mäuse, sind phänotypisch unauffällig. Die Mäuse zeigen eine milde Akkumulation von GM2 im Zentralnervensystem, prägen aber nicht die neurologischen Symptome aus, die für die menschliche Tay-Sachs'sche Erkrankung charakteristisch sind. Dagegen entwickeln die Mäuse mit defekter β -Hexosaminidase B, die Sandhoff-Mäuse, schwere neurologische Störungen; die Lebensdauer der Tiere ist stark reduziert. Die Ursache dafür ist die Spezifität der Sialidase, die sich zwischen Maus und Mensch unterscheidet.^[11] Die Maus-Sialidase akzeptiert GM2 als Substrat und wandelt es in GA2 um. Beim Menschen spielt dieser Stoffwechselweg keine Rolle. GA2 kann durch die noch intakte β -Hexosaminidase B abgebaut werden, so daß bei der Tay-Sachs-Maus trotz eines kompletten Ausfalls der β -Hexosaminidase A der Stoffwechselblock partiell umgangen wird (Schema 3). Erst der Ausfall beider Isoenzyme, Hexosaminidase A und B, führt zu einer Symptomatik, die der menschlichen Sandhoff'schen Erkrankung



Schema 3. Abbauwege für das Gangliosid GM1 in Mensch und Maus [11].

kung entspricht. Zwar kann die Maus-Sialidase weiterhin GM2 zu GA2 umsetzen, GA2 kann aber nicht weiter abgebaut werden, da auch das zuständige Enzym, die β -Hexosaminidase B, defekt ist. Eine Voraussetzung für die Wirksamkeit eines Biosynthese-Inhibitors bei der Behandlung von Sphingolipidosen ist das Vorhandensein einer gewissen Restaktivität des defekten abbauenden Systems in den Lysosomen der Zelle. Im Tiermodell der Tay-Sachs'schen Erkrankung ist eine solche Restenzymaktivität für den Abbau der Speichersubstanzen durch die Maus-Sialidase vorhanden, obwohl keine intakten β -Hexosaminidase A mehr gebildet werden kann. Insofern ist das zur Untersuchung der Verbindung verwendete Tiermodell nicht dazu geeignet, Auswirkungen der Behandlung auf die Symptome der Erkrankung zu studieren, wohl aber die Veränderung morphologischer Parameter zu verfolgen.

Der Effekt

Durch Gabe des Inhibitors werden Serumkonzentrationen von 50 μM aufrechterhalten, die auch bei Menschen erreicht werden, die Verbindung **1** im Rahmen einer antiviralen Therapie erhalten haben.^[12] Diese Konzentration reicht aus, um nach zwölf Wochen Behandlung eine 50proz. Reduktion der Speicherung von GM2 im Hirn der Mäuse gegenüber unbehandelten Mäusen zu erzielen. Im Gegensatz zu unbehandelten Mäusen fanden sich in den Nervenzellen der behandelten Mäuse nach 16 Wochen kaum cytoplasmatische Membranstrukturen, die durch das abgelagerte Lipid gebildet werden. Die Arbeit zeigt, daß die Verbindung gut vertragen wird, die Blut-Hirn-Schranke^[13] passiert und im Zentralnervensystem ausreichend hohe Konzentrationen erreicht, um die Glucosylceramid-Bildung in gewünschtem Umfang zu hemmen.

Der Inhibitor

Die Verbindung **1** hemmt die Glucosyl-Transferase,^[14] die Glucose von Uridindiphosphat-Glucose auf Ceramid überträgt (Schema 1), mit einem IC_{50} -Wert von 20 μM .^[15] Der Mechanismus, der der Hemmung der Glucosyl-Transferase durch alkalierte Iminozucker wie **1** zugrundeliegt, ist nicht bekannt.^[16] Es ist naheliegend anzunehmen, daß das unter physiologischen Bedingungen positiv geladene Stickstoffatom des Carboxonium-Ion im Übergangszustand der Glucosyl-Transferase-Reaktion imitiert. Es wird davon ausgegangen, daß der Mechanismus von Glucosyl-Transferasen dem Mechanismus von Glycosidasen entspricht mit dem Unterschied, daß der Zuckerrest nicht auf Wasser, sondern auf das nucleophile Zentrum eines anderen Glycosylacceptors übertragen wird.^[17] Die enzymstabilisierte Zwischenstufe ist jeweils ein Carboxonium-Ion, daß durch Verlassen des Substituenten am anomeren Zentrum erzeugt wird. Demnach sollte **1** als Übergangszustandsanalogon sowohl von Transferase- als auch Glycosidase-Reaktionen fungieren. Tatsächlich ist **1** seit längerem als potenter Inhibitor der α -Glucosidase I und II bekannt ($\text{IC}_{50} = 0.36 \mu\text{M}$).^[16] Zugleich ist **1** ein Hemmstoff der HIV-Replikation in vitro, wobei es offenbar die posttranskriptionale Prozessierung der *N*-glycosidisch gebunde-

nen Glycane viraler Glycoproteine stört. Die Verbindung ist also weder ein besonders potenter noch ein selektiver Inhibitor der Glucosylceramid-Bildung, was ihre Wirksamkeit bislang nicht zu beeinträchtigen scheint.

Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei der Entwicklung der Verbindung ergaben, daß eine Alkylkettenlänge von drei C-Atomen für die Hemmung der Transferase erforderlich ist, wobei Alkylkettenlänge von C_4 und C_6 optimal sind. Längerketige Verbindungen führen zu einer noch besseren Hemmung in vitro, aber auch zu cytotoxischen Eigenschaften der resultierenden Verbindungen in vivo.

Es sind weitere niedermolekulare Inhibitoren der Sphingolipid-Biosynthese bekannt.^[18] Die Biosynthese-Hemmung stromaufwärts der Glucosylceramid-Bildung kann von Immunsuppression oder der Bildung toxischer Metabolite begleitet werden.^[18] Ceramidanaloge Inhibitoren der Glucosylceramid-Bildung können die Bildung von Sphingomyelin oder die ceramidabhängige Signaltransduktion beeinträchtigen. Eine Verbindung mit verbesserter Selektivität gegenüber **1** ist das entsprechende Derivat mit *D-galacto*-Konfiguration ($\text{IC}_{50} = 40 \mu\text{M}$),^[19] durch das Glycosidasen wie β -Glucosidase und β -Galactocerebrosidase, α -Glucosidase I und II entweder nicht oder nur schwach gehemmt werden. Diese Verbindung wurde jedoch nicht im Tiermodell untersucht. Die Ergebnisse mit den alkalierten Iminozuckern sind auch insofern von Bedeutung, als Versuche zur Entwicklung potenter und selektiver Inhibitoren von Glycosyl-Transferasen bislang wenig erfolgreich waren.

Ausblick

Eine kausale Therapie von Sphingolipidosen war bislang nur bei Patienten der adulten Form (Typ I) der Gaucher'schen Erkrankung erfolgreich. Hier besteht keine Beteiligung des Zentralnervensystems, da die Patienten noch über eine hohe Restaktivität des defekten Enzyms, der Glucosylceramidase verfügen. Es wird eine – sehr teure – Enzymersatztherapie durchgeführt, bei der eine chemisch modifizierte Glucocerebrosidase den Patienten infundiert wird. Gentherapeutische Ansätze und Knochenmarktransplantationen haben bislang nicht zu dem erhofften Erfolg geführt. Um so höher ist der erzielte Erfolg einzuschätzen, bei dem sich durch eine oral verfügbare und gut verträgliche Verbindung die Behandlung einer ganzen Gruppe von Krankheiten abzeichnet. Durch eine Hemmung der Glucosylceramid-Bildung sollten sich auch andere Sphingolipidosen behandeln lassen, bei denen Glycosphingolipide gespeichert werden, die sich biosynthetisch vom Glucosylceramid ableiten und bei denen noch eine enzymatische Restaktivität im Lysosom gefunden wird. Von besonderer Bedeutung ist, daß die Titelverbindung **1** in ausreichendem Umfang die Blut-Hirn-Schranke passiert. Dank der oralen Verfügbarkeit und geringen Toxizität von **1** ist dessen Entwicklung ein bedeutender konzeptioneller Fortschritt auf dem Weg zur Behandlung dieser Gruppe schwerer Erkrankungen.

Stichworte: Bioorganische Chemie • Enzyme • Glycolipide • Inhibitoren • Sphingolipide

- [1] F. M. Platt, G. R. Neises, G. Reinkensmeier, M. J. Townsend, V. H. Perry, R. L. Proia, B. Winchester, R. A. Dwek, T. D. Butters, *Science* **1997**, *276*, 428–431.
- [2] K. Sandhoff, T. Kolter, *Naturwissenschaften* **1995**, *82*, 403–413.
- [3] V. Gieselmann, *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1270*, 103–136.
- [4] S. Hakomori, Y. Igarashi, *J. Biochem.* **1995**, *118*, 1091–1103.
- [5] G. van Echten, K. Sandhoff, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 5341–5344.
- [6] K. Sandhoff, T. Kolter, *Trends Cell Biol.* **1996**, *6*, 98–103.
- [7] P. Leinekugel, S. Michel, E. Conzelmann, K. Sandhoff, *Hum. Genet.* **1992**, *88*, 513–523.
- [8] K. Sandhoff, E. Conzelmann, E. Neufeld, M. M. Kaback, K. Suzuki in *The Metabolic Basis of Inherited Disease* (Hrsg.: C. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, D. Valle), McGraw-Hill, New York, **1989**, S. 1807–1839.
- [9] S. Yamanaka, M. D. Johnson, A. Grinberg, H. Westphal, J. N. Crawley, M. Taniike, K. Suzuki, R. L. Proia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 9975–9979.
- [10] M. Taniike, S. Yamanaka, R. L. Proia, C. Langaman, T. Bonc-Turrentine, K. Suzuki, *Acta Neuropathol.* **1995**, *89*, 296–304.
- [11] K. Sango, S. Yamanaka, A. Hoffmann, Y. Okuda, A. Grinberg, H. Westphal, M. P. McDonald, J. N. Crawley, K. Sandhoff, K. Suzuki, R. L. Proia, *Nature Genet.* **1995**, *11*, 170–176.
- [12] M. A. Fischl, L. Resnick, R. Coombs, A. B. Kremer, J. C. Pottage, R. J. Fass, K. H. Fife, W. G. Powderly, A. C. Collier, R. L. Aspinall, S. L. Smith, K. G. Kowalski, C.-B. Wallemark, *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr.* **1994**, *7*, 139–147.
- [13] A. Aigner, S. Wolf, H. G. Gassen, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 24–42; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 24–41.
- [14] Isolierung: P. Paul, Y. Kamisaka, D. L. Marks, R. E. Pagano, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 2287–2293; Klonierung: S. Ichikawa, H. Sakiyama, G. Suzuki, K. Hidari, Y. Hirabayashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 4638–4693.
- [15] F. M. Platt, G. R. Neises, R. A. Dwek, T. D. Butters, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 8362–8365.
- [16] F. M. Platt, T. D. Butters, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **1995**, *7*, 495–511.
- [17] M. L. Sinnott, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171–1202.
- [18] T. Kolter, K. Sandhoff, *Chem. Soc. Rev.* **1996**, *25*, 371–381.
- [19] F. M. Platt, G. R. Neises, G. B. Karlsson, R. A. Dwek, T. D. Butters, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 27108–27114.

ABONNIEREN STATT FOTOKOPIEREN

Zeitschriften-Beiträge sind mit Sachverstand und Sorgfalt aus dem großen Berg von Informationen ausgewählt, geschrieben, zusammengestellt...

... ergeben zieltreue Informationen: Erfahrungen, die man kaufen kann.

Denn uns liegt daran, daß Sie als Leser mit erweitertem Wissen und vermehrten Einsichten gut gerüstet sind.

Dies ist in Gefahr, wenn Zeitschriftenaufsätze kopiert werden!

Deutsche Fachpresse, Frankfurt am Main, Bonn

Fotokopien werden nicht abonniert...

... und das bedeutet langfristig, daß Fachzeitschriften und wissenschaftlichen Zeitschriften die wirtschaftliche Basis entzogen wird.

... und außerdem: Sie als Leser sollen immer ein komplettes Heft in die Hand bekommen, damit Ihr Wissen nicht einseitig wird...

... und damit IHRE ZEITSCHRIFT auch künftig für Sie da ist.